

Seguimiento de la titulación ácido monoprótico débil-base fuerte con cromatografía de alta resolución –HPLC–

Following the titration monoprotic acid-strong base with High Performance Liquid Chromatography –HPLC–

Carlos Arturo Correa Maya¹ y Edgar Darío Arbeláez²

Recepción: 12-dic-2007/Modificación: 25-jul-2008/Aceptación: 28-jul-2008

Se aceptan comentarios y/o discusiones al artículo

Resumen

Con este artículo se propone la cromatografía líquida de alta resolución –High Performance Liquid Chromatography– como alternativa para realizar el seguimiento a las titulaciones de ácidos débiles con bases fuertes. Aprovechando las bondades de esta poderosa técnica instrumental se puede visualizar en tiempo real todas las sustancias involucradas en el proceso; cuantificar con precisión extraordinaria la variación de su concentración y generar nuevas gráficas que permiten analizar el avance del proceso de neutralización desde perspectivas diferentes. Se estudia el caso de la titulación del acético como ácido débil monoprótico con una base fuerte, hidróxido de sodio, aplicando un método cromatográfico específico para ácidos orgánicos.

Palabras claves: titulación, curvas de titulación cromatográficas, ácidos orgánicos monopróticos, HPLC.

¹ Magíster en química, magíster en Educación, ccorrea@eafit.edu.co, profesor titular, Ingeniería de Procesos, Universidad EAFIT, Medellín-Colombia.

² Analista Químico, earbelae@eafit.edu.co, coordinador de Laboratorios de Procesos, Universidad EAFIT, Medellín-Colombia.

Abstract

This article proposes the High Performance Liquid Chromatography as an alternative to realize the follow up of the weak acids with strong bases titrations. Taking advantage of the kindness of this powerful instrumental technology it is possible to visualize in real time all the substances involved in the process; to quantify with extraordinary precision the variation of its concentration and to generate new graphs that allow analyzing the advance of the neutralization process from different perspectives. It is studied the titration case of the acetic one as weak monoprotic acid by a strong base, sodium hydroxide, applying a specific chromatographic method for organic acids.

Key words: titration, chromatographic titration curves, monoprotic organic acids, HPLC.

1 Experimental

1.1 Preparación de las muestras y corridas cromatográficas

Las sustancias químicas empleadas en este trabajo fueron: ácido acético, hidróxido de sodio, acetato de sodio, fosfato ácido de potasio, acetonitrilo grado cromatografía de la Merck y agua Milli-Q empleada para preparar las soluciones buffer y los estándares.

Se preparan 100 mL de solución patrón 0,1 M de ácido acético y 20 mL de hidróxido de sodio 0,1 M. Se toman 14 alícuotas de 5 mL de ácido y se le agregan volúmenes crecientes de 0,5 mL de base fuerte (hidróxido de sodio) tal como se indica en la tabla 1. Se agitan vigorosamente para asegurar reacción completa, se mide el pH de cada solución resultante, se procede a inyectar 20 μ L en el cromatógrafo y de los cromatogramas respectivos se determinan las áreas y alturas de pico correspondientes al ácido acético y acetato de sodio presentes en la reacción de neutralización. El procedimiento se repitió 5 veces.

1.2 Equipo y condiciones de operación

Los análisis cromatográficos se efectuaron en un equipo Agilent 1200, dotado de bomba cuaternaria, auto muestreador y detectores ultravioleta–arreglo de

diodos, longitud de onda $\frac{210}{8}$ nm, referencia $\frac{360}{80}$ nm. La separación se llevó a cabo en columnas Zorbax SB-Aq 4,6 mm \times 150 mm \times 5 μ m. La fase móvil es una mezcla entre solución acuosa buffer fosfato de potasio 20 mM, pH ajustado a 2,0 y acetonitrilo (99/1 v/v). Se inyectan en el cromatógrafo 20 μ L de cada muestra, con una rata de fase móvil a 1,5 mL/min, temperatura de columna 25°C, con un tiempo previsto de cuatro minutos. Para la parte gráfica y de manejo del equipo se emplea el software ChemStation de Agilent.

2 Discusión

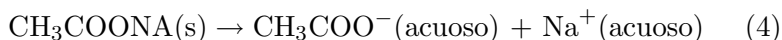
2.1 Antecedentes

La titulación es una técnica analítica cuantitativa muy antigua, empleada durante décadas por los analistas químicos, pero que aún tiene vigencia dada su utilidad para determinar la concentración de soluciones y una de sus aplicaciones más importantes es el seguimiento del proceso de neutralización entre ácidos y bases. En la manera usual de experimentación se registra el pH resultante después de agregar volúmenes crecientes de titulante a volumen constante del titulado y con los resultados se construyen gráficas típicas denominadas curvas de titulación, de mucho interés en química, donde se registra pH contra Volumen agregado de base [1] y, más aún, se aplican técnicas de titulación con pH estático en procesos dinámicos [2]. También, en los laboratorios de análisis químico, es frecuente emplearla para cuantificar iones metálicos con indicadores específicos y titulantes preparados de concentración exacta, cuyos procedimientos están estandarizados y no se tienen dudas de su selectividad, precisión y exactitud [3]. Pero en su desarrollo hay una etapa crucial y es la determinación del punto final, por cuanto depende de la capacidad visual del analista para notar cambios en el indicador y de su respuesta manual para detener el flujo de titulante que sale por la bureta. Con el fin de procurar mayor exactitud y obviar errores humanos, se han buscado otras posibilidades de trabajo que incorporen equipos instrumentales, tal es el caso de las titulaciones fotométricas con resultados mucho más precisos [4] e incluso se ha llegado a monitorear la titulación de ácidos sólidos con difracción de rayos X [5]. Por otro lado, la cromatografía líquida de alta resolución es una técnica instrumental moderna, cuyos parámetros cuantitativos son de

altísima precisión y bajos límites de detección que se aplica recurrentemente para detectar y cuantificar una gran variedad de analitos en muestras de diversa índole, con métodos comprobados en relación con sus potencialidades y eficiencia [6, 7], para cuantificar ácidos orgánicos en extractos vegetales [8], metabolitos en hierbas medicinales [9] y en muestras de alimentos para diferenciar y cuantificar mezclas de ácidos orgánicos débiles [10]. Con este trabajo se propone a la comunidad científica y académica otra alternativa para hacer el seguimiento a la titulación de ácidos débiles con base fuerte, útil y rápida para investigadores y analistas, que parte de la conjunción entre estas dos técnicas analíticas: la aplicación de un método cromatográfico para ácidos débiles y su respectiva titulación con base fuerte.

2.2 Análisis de las ecuaciones pertinentes al equilibrio en estudio

Independientemente de la técnica empleada para determinar la cantidad de analitos en procesos de titulación, la fenomenología química asociada es la misma, lo que obliga a retomar los mismos criterios para estructurar la evaluación de la neutralización entre ácido débil y base fuerte. Para este caso específico de titulación se han de considerar cuatro reacciones básicas: la primera (1), pertinente a la disociación del ácido débil, el acético, en agua como solvente que controla el proceso inicial, para generar los iones acetato e hidronio [11]; la segunda (2), es la neutralización propiamente dicha, entre el ácido acético y la base fuerte (hidróxido de sodio), para generar acetato de sodio y agua; y la tercera (3), corresponde a la hidrólisis del ion acetato proveniente tanto de la primera reacción como de la disociación de la sal producida en la neutralización (4).



La ecuación (1) refleja un proceso reversible con equilibrio químico entre las especies iónicas y la molecular, cuya constante de acidez (K_a) para el

ácido acético tiene un valor de $1,76 \times 10^{-5}$ y se emplea para realizar cálculos de concentraciones de las sustancias involucradas y del pH resultante [12].

En el proceso de neutralización (2) entre ácido acético e hidróxido de sodio se forma la sal acetato de sodio $[\text{CH}_3\text{COONa}]$, que interacciona con el agua que forma solución buffer y los cálculos pertinentes del pH se refieren a un fenómeno particular de equilibrio químico denominado hidrólisis. Al disolverse el acetato de sodio (4) genera el ion acetato que a su vez reacciona con agua (3) regenerando ácido acético, también en un proceso de equilibrio químico.

Tradicionalmente se han empleado estas ecuaciones para calcular teóricamente los pH resultantes, confrontarlos con los medidos con pH metro y de ahí construir las gráficas típicas de pH contra volumen agregado de base, que se pueden consultar en cualquier texto de química analítica [13] y en algunos de ellos se despliega un análisis químico más profundo de los fenómenos involucrados en titulaciones de ácidos mono y polipróticos [14].

3 Metodología de trabajo

Para hacer el seguimiento de esta titulación se implementó un método de cromatografía líquida de alta resolución establecido especialmente para determinar ácidos orgánicos en alimentos, empleando fase móvil y columnas cromatográficas apropiadas para el efecto [10], ya mencionadas.

Primero se realizó, con las condiciones de operación del cromatógrafo, una corrida cromatográfica para solución 0,1 M de ácido acético con el fin de determinar su tiempo de retención y ubicarlo en todos los demás cromatogramas obtenidos (figura 1). Puede leerse en el cromatograma el tiempo de retención para el ácido acético, cercano a 2,3 minutos.

Posteriormente se realizan adiciones crecientes de 0,5 mL de solución 0,1 M de hidróxido de sodio a volumen constante de ácido acético 0,1 M (5,0 mL) hasta sobrepasar químicamente la neutralización completa y se efectúan las cromatografías pertinentes. De los cromatogramas resultantes, se extraen los valores de áreas y alturas de pico de los analitos para hacer correlaciones cuantitativas con el pH, similares a las tradicionales de concentración versus pH [7]. Para ilustrar se incluyen cromatogramas correspondientes tomados a la adición de 5,0 mL de NaOH (figura 2) y 6,0 mL de NaOH (figura 3) a 5,0 mL de ácido acético 0,1 M. En la tabla 1 se registran los valores de

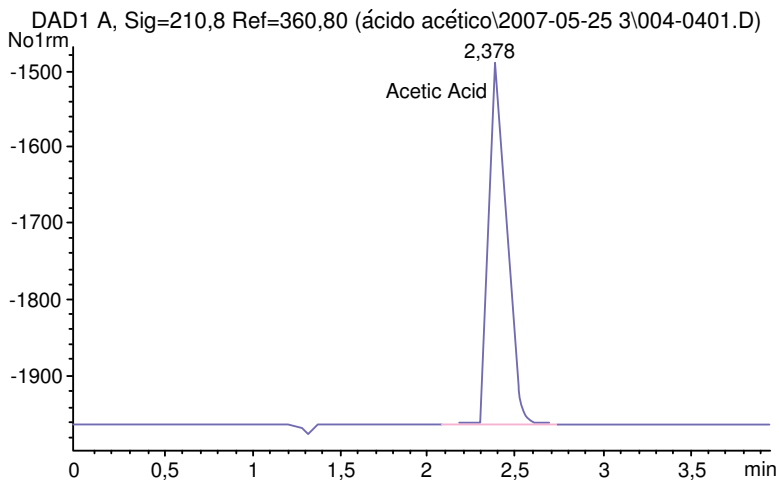


Figura 1: cromatograma ácido acético 0,1 M

áreas y alturas de pico tomados desde los cromatogramas obtenidos para las adiciones de base fuerte.

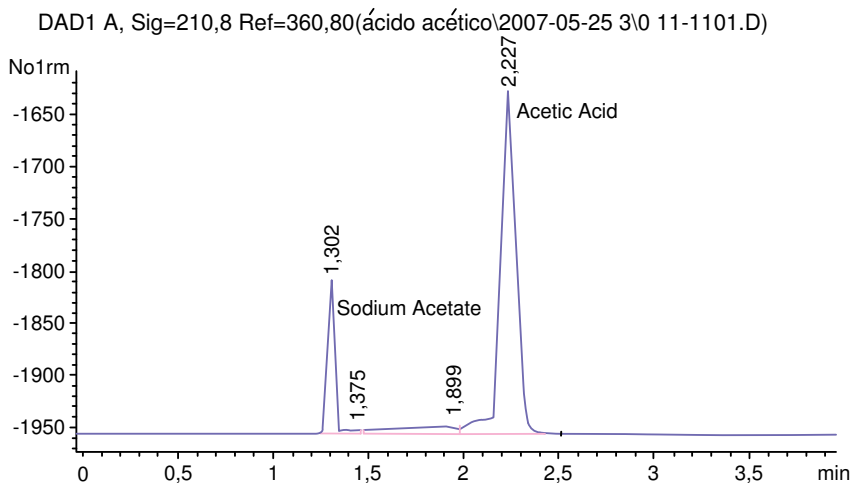


Figura 2: cromatograma ácido acético 0,1 M con 5 mL de NaOH 0,1 M

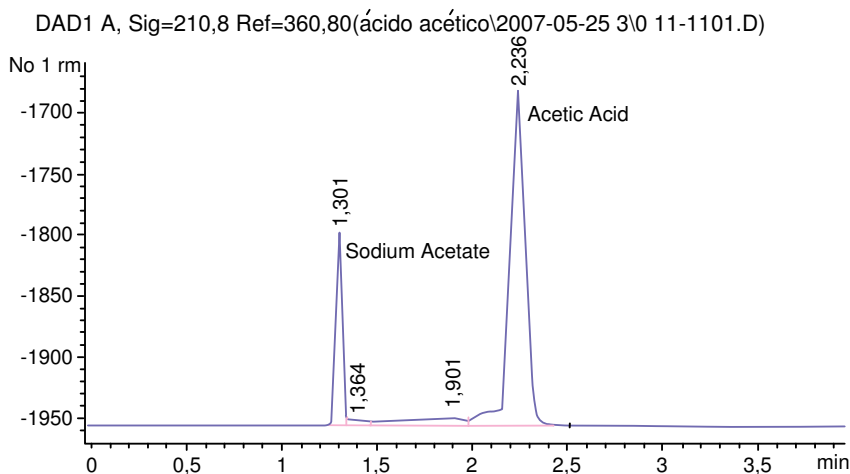


Figura 3: cromatograma ácido acético 0,1 M con 6 mL de NaOH 0,1 M

Nótese que los cromatogramas anteriores demuestran, desde el punto de vista químico, dos cosas interesantes:

1. Las áreas y alturas correspondientes a los picos del ácido acético (figuras 1, 2, 3 y tabla 1) decrecen linealmente con la adición creciente de hidróxido de sodio e indican que su concentración disminuye paulatinamente y paralelamente aumentan los valores de pH. Esos resultados muestran el progreso de la neutralización a la que se ve sometido el ácido débil por la base fuerte. Las figuras 8 y 9 corroboran esta observación.
2. Evidencian la aparición de una sustancia diferente pues registran un pico nuevo, ubicado en un mismo tiempo de retención en todos los cromatogramas (1,29 minutos), que crece paulatinamente tanto en altura como en área. La concentración correspondiente a esta nueva sustancia, aumenta en la medida en que se agrega mayor cantidad de base fuerte y el ácido se va agotando. Se infiere que esta nueva sustancia sea el acetato de sodio. Nótese su presencia en las figuras 2 y 3, con tiempo de retención de 1,3 minutos y que no aparece en el cromatograma tomado para el ácido acético solo (figura 1). Para salir de dudas, en relación con la nueva sustancia, se realiza una corrida cromatográfica a una solución

0,1 M preparada a partir del acetato de sodio sólido, con el fin de registrar su tiempo de retención bajo los mismos parámetros de trabajo empleados en las corridas cromatográficas anteriores (figura 4) y sirve para corroborar que efectivamente la sustancia formada en la titulación sí se corresponde con la esperada, acetato de sodio. Su tiempo de retención es de 1,294 minutos. Sorpresivamente, en este cromatograma en particular, puede observarse el pico correspondiente al ácido acético, que sobreviene como producto de la reacción de hidrólisis entre el ion acetato y agua, mencionada y referida como (3).

Estos registros cromatográficos confirman por qué es importante considerar el seguimiento de los equilibrios químicos asociados a estas reacciones ácido–base con la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

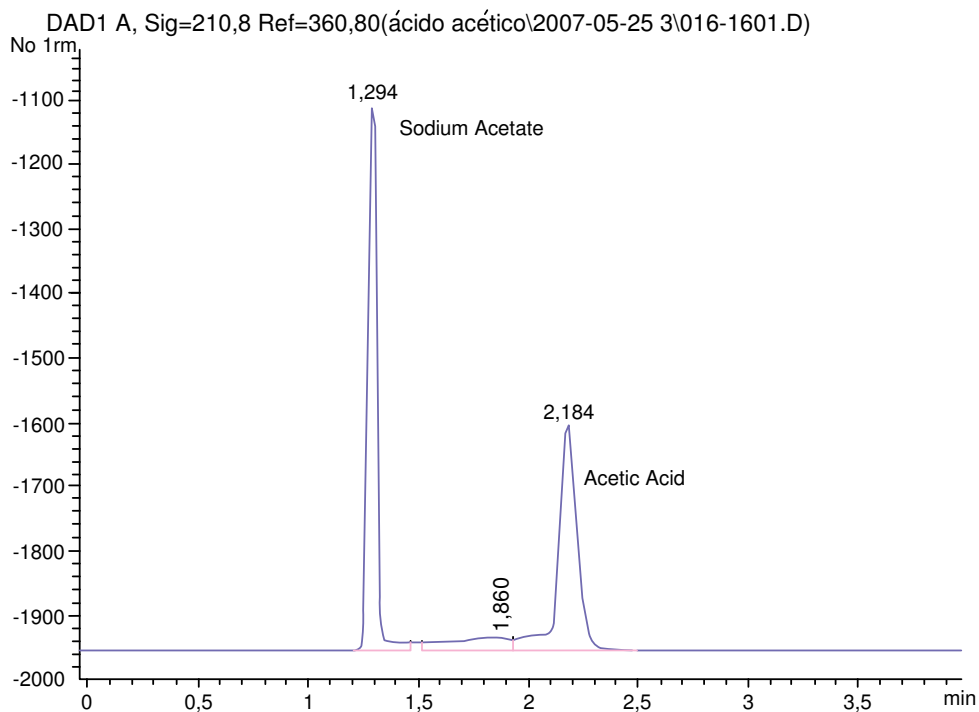


Figura 4: cromatograma para acetato de sodio 0,1 M

Para todas las adiciones sucesivas de NaOH 0,1 M a volumen fijo de ácido acético 0,1 M, se hicieron las corridas cromatográficas respectivas. Los datos obtenidos desde los cromatogramas se registran en la tabla 1.

Tabla 1: resultados cromatográficos titulación ácido acético 0,1 M con NaOH 0,1 M

Volumen (mL) ácido acético 0,1 M	Volumen (mL) adicionado NaOH 0,1 M	pH	Áreas de pico acético	Alturas de pico acético
5,0	0,0	3,13	4035,4	568,5
5,0	0,5	3,82	3633,2	540,2
5,0	1,0	4,11	3391,7	510,7
5,0	1,5	4,32	3094,9	475,0
5,0	2,0	4,52	2676,0	463,1
5,0	2,5	4,66	2365,0	446,5
5,0	3,0	4,73	2231,8	424,8
5,0	3,5	4,86	2033,9	396,7
5,0	4,0	4,93	1891,0	379,5
5,0	4,5	5,11	1684,4	347,4
5,0	5,0	5,26	1520,8	319,4
5,0	5,5	5,44	1417,3	303,1
5,0	6,0	5,68	1277,6	266,7
5,0	6,5	6,21	1178,5	251,4
5,0	7,0	10,53	1057,4	238,1

4 Gráficas y análisis de los resultados

Con los resultados registrados en la tabla 1 se construyen las figuras 5, 6, 7, 8 y 9 que resultan útiles para interpretar la fenomenología química ocurrida en esta titulación y de las cuales se pueden coleccionar algunos análisis de interés.

4.1 Volumen agregado de base fuerte (NaOH) contra pH medido

La forma de la figura 5 es similar a las tradicionalmente reportadas en la literatura, [1, 7, 15], donde se trata este tipo de reacciones químicas entre

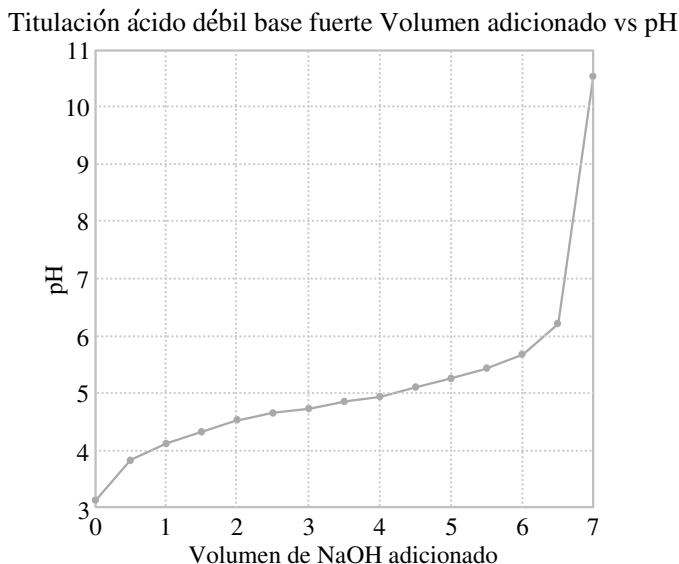


Figura 5: volumen de base fuerte (NaOH) contra pH medido

ácido débil monoprótico y base fuerte, con las mismas variables volumen adicionado de base fuerte (NaOH) contra pH medido. Incluso algunos autores publican construcciones teóricas de este tipo de curvas de titulación con estos mismos analitos, con buena demostración matemática y química de las etapas que se efectúan en las titulaciones [15]. Nótese que, en primera instancia, el incremento en los valores de pH de la solución resultante es gradual, mientras mucha parte del ácido ha sido neutralizado, debido primordialmente a la acción buffer o tampón de la solución. La repentina elevación en la curva de titulación ocurre después de que el ácido ha sido neutralizado, hasta el punto en el cual el cambio de pH es muy similar al que se encuentra en la titulación de ácido fuerte con base fuerte, donde el pH depende ahora de la cantidad de base adicionada. El incremento repentino en el pH ocurre en un rango mucho más corto, en la región de pH básico.

4.2 Áreas de pico correspondientes al ácido acético contra pH

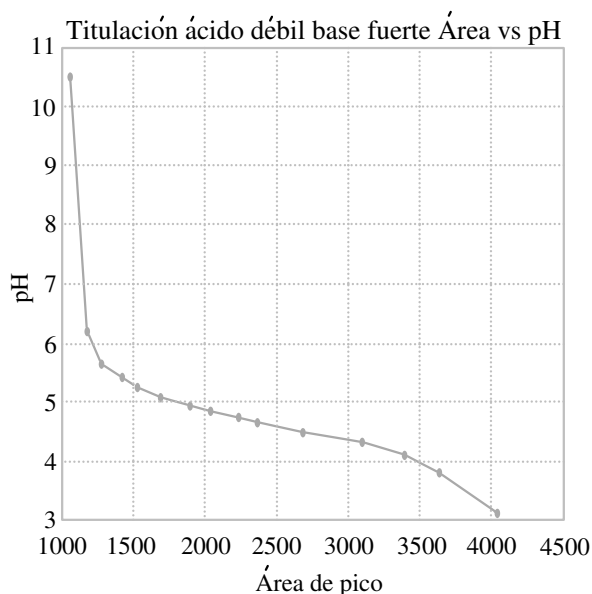


Figura 6: áreas de pico de ácido acético contra pH

La figura 6 permite esclarecer que en este tipo de titulaciones se manifiestan dos comportamientos químicos bien diferentes, dependientes del medio, reflejados en los valores del pH. El primero, mientras subsista un medio ácido, las áreas de pico correspondientes al acético, y por ende su concentración, van disminuyendo gradualmente mientras mucho del ácido débil es neutralizado. Para corroborarlo, obsérvese los valores en la tabla 1 y los cromatogramas mostrados en las figuras 2 y 3. Parece lógico que esto suceda porque en esta región justamente se hace manifiesto el efecto tampón de la solución, donde coexisten las formas del ácido acético, acetato de sodio y del ion acetato, que regulan el pH. El segundo, mientras prime un medio básico, hay una abrupta elevación en la curva después que el ácido ha sido neutralizado y las áreas del pico pertinentes a esta especie decrecen hasta el límite en que sólo dependen

de la reacción de hidrólisis del acetato de sodio. El incremento repentino en el pH ocurre en un rango mucho más corto y se presenta en la región de pH básico donde es baja la concentración del ácido remanente. La tendencia de esta parte de la figura es muy similar a la que se puede obtener en una titulación ácido fuerte con base fuerte, donde el pH depende de la cantidad de base adicionada.

4.3 Altura de los picos correspondientes al ácido acético contra pH

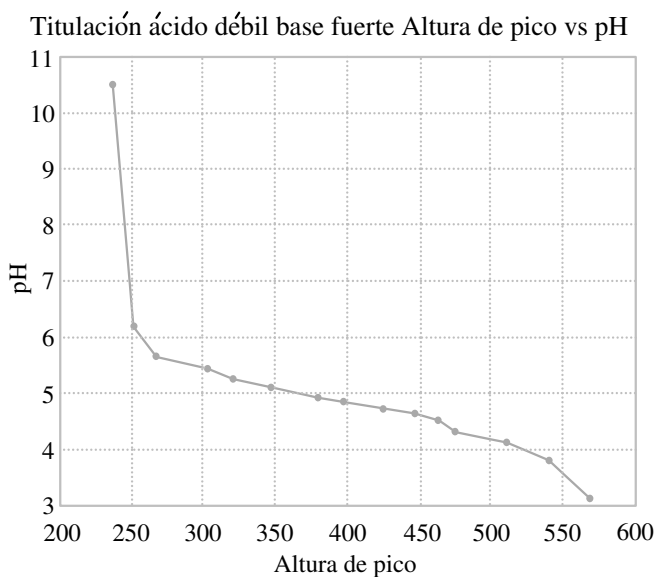


Figura 7: altura de los picos de ácido acético contra pH

La figura 7 corrobora las tendencias presentes en este proceso químico, también observables en la figura 6. Las alturas de pico disminuyen paulatinamente mientras mucho del ácido débil ha sido neutralizado, debido al efecto manifiesto tampón de la solución, donde coexisten las formas del ácido acético y del ion acetato, que regulan el pH. La repentina elevación en esta curva ocurre después de que el ácido ha sido neutralizado y la altura del pico perti-

nente al ácido ha decrecido hasta el límite en que sólo depende de la reacción de hidrólisis. El incremento abrupto en el pH ocurre en un rango mucho más corto y se presenta en la región de pH básico donde es poco el ácido remanente y su evidencia cromatográfica en altura se ve notoriamente disminuida. Nótese que ambas figuras indican que el ácido débil no desaparece de la escena química, por cuanto su remanente se obedece al equilibrio químico de la hidrólisis. El parecido es asombroso con las clásicas curvas de titulación pH versus volumen agregado de base.

4.4 Volumen agregado de base fuerte (NaOH) contra área de los picos

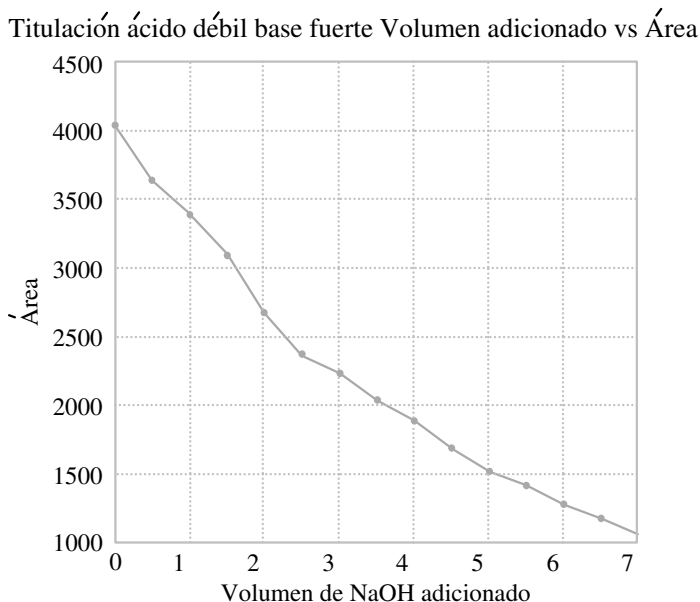


Figura 8: volumen agregado de base fuerte contra área de pico

4.5 Volumen de base fuerte (NaOH) agregado contra altura de los picos

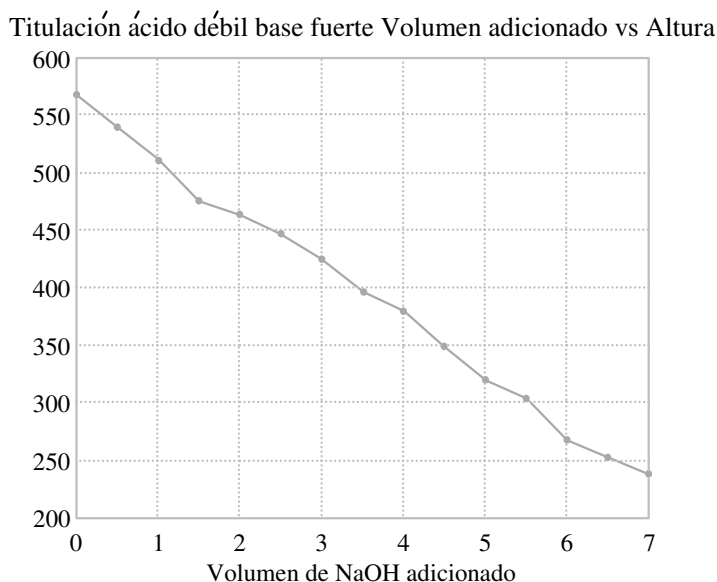


Figura 9: volumen de base fuerte agregado contra altura de pico

Las figuras 8 y 9 evidencian que en la medida en que se incrementa la base fuerte, tanto las áreas como las alturas de los picos cromatográficos correspondientes al acético, disminuyen en forma lineal. También demuestran que su especie molecular no desaparece de la escena química porque estas dos variables cromatográficas no llegan a valores de cero; esto podría explicarse desde (2) y (3). Dicho de otra manera, a volúmenes mayores de NaOH adicionados a volúmenes constantes de acético, la cantidad molar del ácido disminuye paulatinamente sin llegar a consumirse. Si bien se sobrepasa el punto final de la titulación con volúmenes superiores a 7,0 mL de base adicionada, las figuras 8 y 9 y los resultados de los cromatogramas (tabla 1), evidencian la existencia de un remanente inagotable de ácido acético, generado por la hidrólisis del ion acetato.

5 Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, puede concluirse:

1. La cromatografía líquida de alta resolución es una poderosa técnica instrumental que los investigadores en química tienen como alternativa para hacer el seguimiento a titulaciones de ácidos débiles con base fuerte, pues involucra dos variables cuantitativas denominadas áreas de pico y alturas de pico, con las cuales pueden construir un nuevo tipo de figuras útiles para interpretar el avance de estos procesos.
2. Una ventaja competitiva cuando se emplea la cromatografía líquida para estudiar las titulaciones ácido-base es que evidencia y registra en tiempo real todas las especies involucradas en el proceso, mientras que con las técnicas tradicionales no hay forma de hacerlo. Nótese que los cromatogramas reportados en este trabajo registran las sustancias, manifiestas en picos que varían en altura y área, en la medida en que la reacción progresa. Esta información es valiosa para darle validez a la argumentación química que se invoca para explicar la fenomenología de estas titulaciones.
3. Cuando se analiza en profundidad los cromatogramas sobresalen dos detalles importantes que los textos de Química Analítica poco refieren. Lo primero, registran en todo el proceso de titulación un pico correspondiente al ácido acético, demostrando con ello que esta especie molecular no llega a agotarse, independiente de la cantidad de base adicionada, incluso a valores altos de pH. Probablemente se regenera a partir del equilibrio asociado al fenómeno de la hidrólisis de la sal formada y por la acción buffer de la solución. Lo segundo, muestran el pico del acetato de sodio creciendo en forma paulatina indicando un aumento en su concentración como producto de la reacción, en la medida en que la reacción de neutralización progresa.
4. Las figuras Altura de pico versus pH y Áreas de pico versus pH, construidas a partir de los datos extraídos de los cromatogramas, posibilitan en buena medida explicar la fenomenología involucrada en los procesos de neutralización de ácidos débiles monopróticos con base fuerte.

Referencias

- [1] John C. Kotz y Paul M. Triechel. *Química y reactividad química*, ISBN 970–686–307–9, 5ª edición. Thomson. México, 754–757 (2003). Referenciado en 11, 17
- [2] Tadeusz Michalowski, Marcin Toporek and Maciej Rymanowski. *pH Static Titration: A Quasistatic Approach*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021–9584, **84**(1), 142–150 (2007). Referenciado en 11
- [3] D. Skoog, Donald West, James Holler and Stanley Crouch. *Fundamentos de Química Analítica*, ISBN 970–686–369–9. 8ª edición. Thomson, México, 245–262 y 466–490 (2005). Referenciado en 11
- [4] Cristina Rodríguez, José M. Amigo, Jordi Coello y Santiago Maspoeh. *An Introduction to Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares: Spectrophotometric Study of the Acid–Base Equilibria of 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonic Acid*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021–9584, **84**(7), 1190–1192 (2007). Referenciado en 11
- [5] Keenan Dungey and Paul Epstein. *Titration of a solid acid monitored by X-ray diffraction*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021–9584, **84**(1), 122–123 (2007). Referenciado en 11
- [6] Karen M. Gooding. *HPLC of Biological Macromolecules: Methods and Applications*, ISBN 978-0824778798, Fred E. Regnier (Editor), 796 (1990). Referenciado en 12
- [7] Douglas A. Skoog y James J. Leary. *Análisis Instrumental*, ISBN 0–03–023343–7, 4º edición. McGraw–Hill, México, 730–777 (1994). Referenciado en 12, 13, 17
- [8] Vera Canelas and Cristina Teixeira da Costa. *Quantitative HPLC Analysis of Rosmarinic Acid in Extracts of Melissa officinalis and Spectrophotometric Measurement of Their Antioxidant Activities*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021–9584, **84**(9), 1502–1504 (2007). Referenciado en 12
- [9] W. F. Chan and C. W. Lin. *High-Pressure Liquid Chromatography: Quantitative Analysis of Chinese Herbal Medicine*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021–9584, **84**(12), 1982–1984 (2007). Referenciado en 12
- [10] M. Tormo and J. M. Izco. *Alternative reversed-phase high-performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products*. Journal of Chromatography A, **1033**(2), 305–310 (2004). Referenciado en 12, 13

- [11] Oleg Prezhdo, Collen F. Craig, Yuriy Fialkov and Victor Prezhdo. *Control of chemical equilibrium by solvent: A basis for teaching physical chemistry of solutions*. Journal of Chemical Education, ISSN 0021-9584, **84**(8), 1348–1354 (2007). Referenciado en 12
- [12] Judith F. Robinson y Kenneth A. Robinson. *Química Analítica Contemporánea*, ISBN 970–17–03412–1. Prentice Hall, México, 168–190 (2000). Referenciado en 13
- [13] A. Popov and R. Pflaum. *Introductory Analytical Chemistry*, ISBN 978-0669252392. DC Heath. Library of Congress Catalog Card Number 66–17008, 298 (1967). Referenciado en 13
- [14] O. Budevsky, R. A. Chalmers and Mary R. Masson. *Foundations of Chemical Analysis*, ISBN 0–85312–113–3. Ellis Horwood Limited. New York, 44–54 (1979). Referenciado en 13
- [15] Rubén Darío Osorio Giraldo. *Métodos numéricos en Química con Matlab*, ISBN 978–958–714–044–6. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín. 127–139 (2007). Referenciado en 17, 18